



PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/150476>

Please be advised that this information was generated on 2018-07-07 and may be subject to change.

con índices pronósticos de 0, 1 y 2, respectivamente. Tanto el porcentaje como el número absoluto de CPA en SP -mediana (rango)-, eran significativamente inferiores en las GMSI -0,00016% (<0,0001%-0,0045%) y 0,0083 CPA/μL (0,0001 CPA/μL- 3,19 CPA/μL)- respecto a los MM -0,0036% (0,00064%-1,05%) y 0,13 CPA/μL (0,043 CPA/μL -103,79 CPA/μL) (p<0,05). Se detectó una relación clara entre la presencia de CPA circulantes en SP y el porcentaje de CPA dentro del compartimento medular de CP, tanto en los pacientes con MM como con GMSI, observándose CPA circulantes de forma sistemática en aquellos pacientes que mostraban un porcentaje de CPA >60% del total de CP en MO (R²=0,854).

Conclusiones: El nuevo método IMF-EuroFlow para la detección de EMR en pacientes con MM mediante NGF, permite detectar CPA circulantes en SP con elevada sensibilidad, demostrando que este es una característica común a todos los pacientes con MM y la mayoría de los sujetos con GMSI, particularmente en GMSI que presentan mayor grado de infiltración medular y mayor riesgo de progresión.

CO-059

CARFILZOMIB Y DEXAMETASONA (KD) VS BORTEZOMIB Y DEXAMETASONA (VD) EN PACIENTES (PTS) CON MIELOMA MÚLTIPLE EN RECAÍDA (MMR): RESULTADOS DEL ESTUDIO DE FASE 3 ENDEAVOR

Oriol A¹, Rosiñol L², Dimopoulos Meletios A³, Moreau P⁴, Palumbo A⁵, Joshua D⁶, Pour L⁷, Hájek R⁸, Facon T⁹, Ludwig H¹⁰, Goldschmidt H¹¹, Straub J¹², Suvorov A¹³, Araujo C¹⁴, Andreeva N¹⁵, Pika T¹⁶, Gaidano G¹⁷, Weisel K¹⁸, Gillenwater H¹⁹, Chng W-J²⁰

¹Institut Català d'Oncologia; Hospital Germans Trias i Pujol; Barcelona; Spain; ²Hospital Clínic de Barcelona; Barcelona; Spain; ³School of Medicine; National and Kapodistrian University of Athens; Athens; Greece; ⁴University of Nantes; Nantes; France; ⁵University of Torino; Torino; Italy; ⁶Royal Prince Alfred Hospital; New South Wales; Australia; ⁷University Hospital Brno; Brno; Czech Republic; ⁸University Hospital Brno and Faculty of Medicine; University of Ostrava; Ostrava; Czech Republic; ⁹CHRU Lille Hopital Claude Huriez; Lille; France; ¹⁰Wilhelminen Cancer Research Institute; Wilhelminenhospital; Vienna; Austria; ¹¹Heidelberg Medical University; Heidelberg; Germany; ¹²Vseobecna fakultni nemocnice v Praze; Prague; Czech Republic; ¹³Hematological Department; First Republican Clinical Hospital of Udmurtia; Izhevsk; Russia; ¹⁴Centre Hospitalier de la Cote Basque; Bayonne; France; ¹⁵Semashko Central Clinical Hospital; Moscow; Russia; ¹⁶Department of Hematooncology; University Hospital Olomouc; Olomouc; Czech Republic; ¹⁷Division of Hematology; Department of Translational Medicine; Amedeo Avogadro University of Eastern Piedmont; Novara; Italy; ¹⁸Universitätsklinikum Tübingen; Tübingen; Germany; ¹⁹Onyx Pharmaceuticals; Inc; an Amgen Subsidiary; South San Francisco; CA; USA; ²⁰National University Cancer Institute; National University Health System; Singapore

Fundamento y objetivos: El estudio ENDEAVOR (NCT01568866) compara Kd versus Vd en pacientes (pts) con MMR. El objetivo primario es la supervivencia libre de progresión (SLP). Los objetivos secundarios incluyen la supervivencia global (SG), la tasa de respuesta global (TRG), la tasa de neuropatía periférica (NP), y la seguridad.

Métodos: Fueron elegibles los pts con MMR y 1-3 tratamientos previos; se planeaba reclutar 888 pts. Los pts fueron aleatorizados 1:1 y estratificados según K o V previo (sí vs no), líneas previas de tratamiento (1 vs 2-3), estadio ISS (1 vs 2-3), y vía de administración de V (IV vs SC). El brazo Kd recibió K (30 min de infusión IV) los días (D) 1, 2, 8, 9, 15, y 16 en ciclos de 28 días (20 mg/m² el D1 y 2 [ciclo 1]; 56 mg/m² a partir de entonces) y dexametasona (dex; 20 mg) el D1, 2, 8, 9, 15, 16, 22, y 23. Los pacientes del brazo Vd recibieron V (1,3 mg/m²; IV o SC el D1, 4, 8, y 11 en ciclos de 21 días) y dex (20 mg) el D1, 2, 4, 5, 8, 9, 11, y 12. Los ciclos se administraron hasta la progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable.

Resultados: En total, se aleatorizaron 929 pts (Kd: 464; Vd: 465) de 27 países. En el brazo de Vd, el 83,6% de los pts recibió V SC. Los datos comparativos se presentan primero para Kd y después para Vd. En el análisis intermedio, la mediana de duración del tratamiento fue de 39,9 y 26,8 semanas. Kd prolongó significativamente la SLP en comparación con VD (18,7 meses [m] frente a 9,4 m; hazard ratio=0,53; p <0,0001). Los eventos para analizar SG son aún insuficientes (75 y 88 muertes) y los pts continúan en seguimiento. Las TRG fueron 76,9% y 62,6% (p <0,0001); el 54,3% y 28,6% de pts tuvieron una muy buena respuesta parcial o superior, y el 12,5% y el 6,2% de los pts tuvo una respuesta completa o superior. El 14,0% y 15,7% de pts interrumpió el tratamiento debido a un acontecimiento adverso (AA). El 3,9% y 3,4% de pts falleció

durante el estudio debido a un AA. Los AAs de interés (de grado ≥3) incluyeron: hipertensión (8,9% vs 2,6%), disnea (5,6% vs 2,2%), insuficiencia cardíaca (4,8% vs 1,8%), e insuficiencia renal aguda (4,1% vs 2,6%). Las tasas de NP de grado ≥2 fueron del 6,3% vs 32,0% (p <0,0001).

Conclusiones: Kd demostró una superioridad estadísticamente significativa y clínicamente relevante sobre Vd en MMR, duplicando la mediana de SLP. Además, Kd presentó un perfil favorable de riesgo-beneficio. Estos datos sugieren que K podría ser, potencialmente, el mejor fármaco de su clase para la MMR.

Financiado por Amgen S.A.

CO-060

EL ANÁLISIS DEL EPIGENOMA DEL MIELOMA MÚLTIPLE REVELA UNA HIPERMETILACIÓN DEL DNA EN REGIONS ENHANCER ESPECÍFICOS DE CELULAS B

Agirre X¹, Castellano G², Pascual M¹, Heath S³, Kulis M², Segura V⁴, Bergmann A⁵, Russiñol N², Queirós AC², Beekman R², Rodríguez-Madoz Juan R¹, San José-Enériz E¹, Gutiérrez Norma C⁶, García-Verdugo JM⁷, Schirmer Eric C⁸, Gut M³, Calasanz Maria J⁹, Flicek P¹⁰, Siebert R⁵, Campo E², San Miguel Jesús F¹¹, Melnick A¹², Stunnenberg Hendrik G¹³, Gut Ivo G³, Prósper F^{1,11}, Martín-Subero JI²

¹Area de Oncología; Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA); Universidad de Navarra; Pamplona; Spain; ²Unidad de Hematopatología; Servicio de Anatomía Patológica; Hospital Clínic; Universitat de Barcelona; Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS); Barcelona; Spain; ³Centro Nacional de Análisis Genómico; Parc Científic de Barcelona; Barcelona; Spain; ⁴Unidad de Bioinformática; Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA); Universidad de Navarra; Pamplona; Spain; ⁵Institute of Human Genetics; Christian-Albrechts-University; Kiel; Germany; ⁶Hospital Universitario de Salamanca; Salamanca; Spain; ⁷Department of Cellular Morphology; University of Valencia; Unidad Mixta CIPF-UEG; CIBERNED; Valencia; Spain; ⁸The Wellcome Trust Centre for Cell Biology; University of Edinburgh; Edinburgh; UK; ⁹Departamento de Genética; Universidad de Navarra; Pamplona; Spain; ¹⁰European Bioinformatics Institute; European Molecular Biology Laboratory; Cambridge; UK; ¹¹Clinica Universidad de Navarra; Universidad de Navarra; Pamplona; Spain; ¹²Division of Hematology/Oncology; Department of Medicine; Weill Cornell Medical College; New York; USA; ¹³Department of Molecular Biology; Faculty of Science; Nijmegen Centre for Molecular Life Sciences; Radboud University Nijmegen; Nijmegen; The Netherlands

El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia agresiva e incurable caracterizada por la proliferación clonal de las células plasmáticas (CP) en la médula ósea y una marcada heterogeneidad clínico-biológica. En el MM se han detectado distintas alteraciones genéticas, pero en estudios recientes se ha demostrado que las alteraciones en los mecanismos epigenéticos, como la metilación del DNA, pueden jugar un papel muy importante en su desarrollo. En este estudio, hemos analizado el metiloma completo del DNA del MM mediante secuenciación del genoma tras el tratamiento con bisulfito (2 muestras de CP de MM y 1 de CP normales (CPN)) y mediante arrays de metilación (104 muestras de CP de MM y 11 de CPNs). Este análisis ha revelado un patrón de la metilación del ADN altamente heterogéneo entre los pacientes con MM, pero caracterizado por una hipermetilación de regiones concretas integrado en una amplia hipometilación del genoma. En contra de lo descrito ampliamente en el cáncer relacionando la hipermetilación del DNA en islas CpG de regiones promotoras de genes, en nuestro estudio hemos observado que la hipermetilación en el MM se localiza fuera de las islas CpGs e interesantemente, asociada a 794 regiones enhancer intrónicos definidos en células B y CPNs. Con la finalidad de evaluar si la hipermetilación de las regiones enhancer podría tener una relevancia funcional en MM, hemos estudiado la expresión de sus genes hospedadores mediante RNA-seq y el clonaje de las regiones enhancer en un vector con luciferasa libre de dinucleótidos CpG. Estos análisis han mostrado que la hipermetilación de las regiones enhancer en MM se asocia significativamente con la disminución de la expresión de sus genes hospedadores. Los análisis mediante Chip-seq (H3K4me1 y HeK27ac) y DNase-seq, han revelado que en estas regiones enhancer, además de la hipermetilación del DNA ocurre una pérdida completa de las marcas de histonas que los definen. Interesantemente, estas regiones enhancer hipermetiladas en MM se superponen con regiones de unión de factores de transcripción (FT) específicos de células B. La expresión de los FT como STAT5, PAX5, NFATC1 o BATE, correlaciona inversamente con el grado de metilación de las regiones enhancer en

MM. Además, las regiones enhancer hipermetiladas en el MM también lo están en las células madre y gradualmente se van desmetilando durante la diferenciación normal de las células B. Esto sugiere que las CP de MM o bien vuelven a adquirir las características epigenéticas de las células diferenciadas o bien mantienen el patrón epigenético de un progenitor de célula madre mielomatoso. En conclusión, en este estudio hemos identificado una nueva forma de modificación epigenética, la hipermetilación de las regiones enhancer regulados durante el desarrollo de las células B, asociado a la patogénesis del MM.

CO-061

RESULTADOS DE 66 PACIENTES CON PLASMOCITOMAS EXTRAMEDULARES (PE) INCLUIDOS EN UN ESTUDIO FASE III DEL GRUPO PETHEMA/GEM DE TERAPIA DE INDUCCIÓN PREVIA A TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN MIELOMA MULTIPLE

Segura Raquel J¹, Rosiñol L¹, Teruel AP², De la Rubia J³, Mateos M⁴V⁴, Hernández MT⁵, Hernández D⁶, Blanchard M³J⁷, Iñigo B⁸, Palomera L⁹, Krsnik I¹⁰, Francisco Tomás J¹¹, Gutiérrez CN, San Miguel J¹², Lahuerta JJ¹³, Bladé J¹⁴, on behalf of Grupo Español de Mieloma (PETHEMA/GEM)¹⁵

¹Hematología; IDIBAPS; Hospital Clínic; Barcelona; ²Hospital Clínico Universitario de Valencia; Valencia; ³Hospital Universitario la Fe; Valencia; ⁴Hospital universitario de salamanca-IBSAL; Salamanca; ⁵Servicio de Hematología Clínica; Hospital Universitario de Canarias; Tenerife; ⁶Hospital La Paz; Madrid; ⁷Hospital Ramón y Cajal; Madrid; ⁸Hospital Clínico San Carlos; Madrid; ⁹Hospital Lozano Blesa; Zaragoza; ¹⁰Hospital Puerta de Hierro Majadahonda; ¹¹MD Anderson Spain; Madrid; ¹²Centro de Investigación del Cáncer (CIC; IBMCC USAL-CSIC); Salamanca; ¹³Hospital Universitario de Salamanca; Salamanca; ¹⁴Hospital Universitario 12 de Octubre; Madrid; ¹⁵Hospital Clínic de Barcelona; Barcelona

Introducción: Hace poco publicamos los resultados del Estudio fase III (GEM05menos65) del grupo PETHEMA/GEM donde se comparaba la inducción con talidomida/dexametasona (TD) vs Bortezomib/talidomida/dexametasona (VTD) vs VBMCP/VBAD/Bortezomib (VBMCP/VBAD/B) en pacientes d65 años con nuevo diagnóstico de MM seguido de TASP con MEL-200 y terapia de mantenimiento con interferón vs talidomida vs bortezomib/talidomida. Sin embargo la eficacia de los nuevos agentes en pacientes con enfermedad extramedular no está bien establecida. Nuestro objetivo es describir las características y resultados de pacientes con PE homogéneamente tratados en el ensayo clínico GEM05menos65.

Pacientes y métodos: TD consistió en talidomida 200 mg/d y dexametasona 40 mg los días 1-4 y 9-12 cada 4 semanas por 6 ciclos. El régimen de VTD era idéntico a TD mas bortezomib 1.3 mg/m² i.v los días 1,4,8,11 de cada ciclo. La combinación quimioterapia mas bortezomib consistió en 4 ciclos de VBMCP/VBAD seguidos de 2 ciclos de bortezomib i.v. 390 pacientes fueron reclutados en el estudio y 66 (17%) tenían PE (mediana de edad: 54 años, H: 33, M: 33). La localización de los PE fue de masas blandas a partir de hueso (61), masa testicular (1) y no especificado (4). La terapia de inducción fue VBMCP/VBAD/B en 17 casos, TD en 23 y VTD en 26.

Resultados: 12 pacientes (23%) presentaban citogenética de alto riesgo. El porcentaje de RC fue 42%, 13% y 29% con VTD, TD y VBMCP/VBAD/B, respectivamente. Los pacientes con PE tuvieron una tasa de progresión de la enfermedad durante la terapia de inducción superior que los pacientes sin PE (24% vs 11%, p=0.01) y esto fue observado en los 3 brazos de inducción (VBMCP/VBAD/B 24% vs 9%, TD 40% vs 19%, VTD 12% vs 6%). 43 pacientes recibieron TASP. La tasa de RC postrasplante fue superior en el brazo de VTD comparado con TD (50% vs 22%, p=0.07) pero no hubo diferencias significativas con VBMCP/VBAD/B (50% vs 41%, p=0.7). Después de una mediana de seguimiento de 70 meses, no hubo diferencias significativas en la SLP entre los pacientes con o sin PE (28.2 vs 39.9 meses, p=0.8). Tampoco hubo diferencias significativas en la SG comparando los pacientes con PE y los pacientes sin PE (60% vs 65% a los 60 meses p=0.2).

Conclusiones: 1) En nuestro estudio la frecuencia de PE fue del 17%, 2) los pacientes con PE tuvieron una tasa superior de progresión de la enfermedad durante la fase de inducción en comparación con los pacientes sin PE, siendo VTD la mejor opción de tratamiento 3) No hubo diferencias significativas en la SLP o SG en los pacientes con o sin PE.

CO-062

EVALUACIÓN DE LOS MECANISMOS RESPONSABLES DEL SINERGISMO DE LA COMBINACIÓN DE FILANESIB CON POMALIDOMIDA Y DEXAMETASONA

Hernández García S¹, San Segundo L¹, Martín Sánchez M¹, González Méndez L¹, Corchete LA¹, Paíno T¹, López Iglesias AA¹, Algarín EM¹, Garayoa M¹, Tunquist B², San Miguel JF³, Mateos MV¹, Ocio EM¹

¹Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL; IBMCC (University of Salamanca-CSIC); University Hospital & Cancer Research Center; Salamanca; Spain; ²Array BioPharma Inc; Boulder; Colorado; ³Clínica Universidad de Navarra; Centro de Investigaciones Médicas Aplicadas (CIMA); IDISNA; Pamplona; Spain

Introducción: Filanesib (ARRY-520) es un inhibidor de las "kinesin spindle proteins" (KSP), que ha demostrado eficacia en pacientes con MM refractario, (Lonial ASH 2013), y que presenta un elevado sinergismo preclínico en combinación con pomalidomida y dexametasona (ASH 2014).

Métodos: Se evaluó la eficacia de la combinación *in vitro* (con y sin factores de crecimiento IL-6 e IGF-I y en cocultivo con BMSCs, HS5 y TERT) en líneas celulares de MM por técnicas de MTT, bioluminiscencia y usando el programa calcsyn. La eficacia *in vivo* se evaluó en un modelo de plasmocitoma subcutáneo en ratones CB17-SCID. El mecanismo de acción fue analizado utilizando: Western-Blot, citometría de Flujo, técnicas genómicas, inmunohistoquímica e inmunofluorescencia.

Resultados: La combinación de filanesib con pomalidomida y dexametasona (FPD) mostró índices de combinación en rangos sinérgicos (0.4 a 0.7) en diferentes líneas celulares de MM (MM1S, OPM2, RPMI8226). Asimismo, FPD venció la ventaja proliferativa de células de mieloma previamente tratadas con IL6 o IGF-I y en cocultivo con células del microambiente medular (TERT, HS-5 y BMSCs). Mediante ensayos de citometría con DRAQ5 y Anexina V a 48 horas, FPD provoca parada en fases proliferativas y, una apoptosis específica de estas células paradas en fases proliferativas (control 5%; poma+dexa 23%; filanesib, 58%; y FPD 88%). En consonancia, por Western-Blot se observó desregulación de ciclinas de interfase (D2) y de G2/M (B1) y un incremento de proteínas de la familia BCL2 implicadas en apoptosis por vía intrínseca (NOXA, BIM y sus isoformas más proapoptóticas) y por vía extrínseca (BID y tBID). El potencial de membrana mitocondrial evaluado por TMRE disminuye cuando las células entran en apoptosis. La ausencia de rescate de apoptosis con el inhibidor de caspasas Z-VAD-FMK, sugiere que esta combinación induce apoptosis independiente de caspasas. Estos resultados se confirmaron *in vivo* en tumores de pequeño (70 mm³) y gran tamaño (2000 mm³). En este modelo, la combinación triple fue la única que frenó el crecimiento tumoral durante 50 días y esto se correlacionó con una mejora de la supervivencia estadísticamente significativa. Analizando el perfil de expresión génica, entre los genes desregulados exclusivamente en FPD (Q value<0.05 y Fold change≥2) destacan los pertenecientes a diferentes vías: checkpoint de la mitosis (CDC20, CENP-E y CENP-F) y apoptosis (BCL2L11). Además, mediante inmunohistoquímica se demostró que FPD mostró más apoptosis por TÚNEL y un importante incremento de los husos monopolares (HM): 140 HM/ 10 campos de gran aumento (CGA) con FPD, en comparación con filanesib solo (53 HM/ 10 CGA), y mucho más que en la doble poma+dexa (0 HM/ 10 CGA) y que en el control (2 HM/ 10 CGA).

Conclusiones: Nuestros resultados muestran una importante eficacia de filanesib en combinación con dexametasona y pomalidomida y ayudan a dilucidar el mecanismo de acción de esta combinación tan prometedora. Estos datos son la base para el ensayo clínico "Pomdefil" que se ha puesto en marcha recientemente en el contexto del grupo español de MM (GEM) para evaluar esta combinación. Este trabajo ha sido financiado en parte por la empresa Array BioPharma.

CO-063

ACTIVIDAD ANTITUMORAL DE LA AMILORIDA EN EL MIELOMA MÚLTIPLE MEDIANTE LA INDUCCIÓN DE APOPTOSIS INDEPENDIENTE DEL ESTADO DE TP53

Rojas Ricardo E, Misiewicz-Krzeminska I, Hernández García S, Paíno T, Corchete LA, Isidro I, Mateos MV, Ocio E, Gutiérrez NC

Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca; IBSAL IBMCC (USAL-CSIC)

Actividad antitumoral de LA amilorida en el mieloma múltiple me-